

Über einen Schnellnachweis
von Mastitistherapeutika in der Milch

Doris Kohz-Bernett

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Walther Baier

Über einen Schnellnachweis von Mastitistherapeutika

in der Milch

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Doris Kohz-Bernett
aus
München

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. W. B a i e r

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

Inhaltsverzeichnis

	Seite:
1. Einleitung	1
2. Die Euterentzündung des Rindes	2
a) Bedeutung der Mastitis	2
b) Erreger der Mastitis	3
c) Die heute verwendeten Antibiotika und deren Beziehung zur Mastitistherapie	5
3. •Ausscheidung der zur Euterbehandlung verwendeten Antibiotika in der Milch	13
4. Nachteile für die Milchverarbeitung durch antibiotikahaltige Milch	16
5. Versuche zur Vermeidung der durch die Ausscheidung der Therapeutika entstehenden Schäden in der Milchverarbeitung	19
6. Nachweismethoden für Antibiotika in der Milch	22
7. Eigene Untersuchungen	26
a) Material	26
b) Methoden	27
aa) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Penicillin	28
bb) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Aureomycin	31
cc) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Streptomycin	33
dd) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Supronal	35
8. Diskussion	38
9. Zusammenfassung	39
Literaturverzeichnis	40
Lebenslauf	45



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

In der heutigen Mastitistherapie finden Antibiotika und Sulfonamide fast ausschließlich Verwendung. Bei frühzeitiger Milchablieferung können jedoch, infolge Ausscheidung der verwendeten Therapeutika in die Milch, durch ihre keimhemmende Wirkung Störungen bei der Milchverarbeitung auftreten.

Herr Professor Dr. W. B a i e r beauftragte mich daher, die Nachweismöglichkeiten der wichtigsten antibiotischen Stoffe, die heute in der Euterbehandlung eine Rolle spielen, zu überprüfen, um mittels einer einfachen und praktisch durchführbaren Untersuchungsmethode antibiotikahaltige Milchlieferungen möglichst frühzeitig erkennen zu können.

Für Penicillin wurde von F l e i s c h m a n n (7) eine Testmethode entwickelt, deren Wirksamkeit auf Aureomycin, Streptomycin und Sulfonamide von mir untersucht wurde.

2. Die Euterentzündung des Rindes

a) Bedeutung der Mastitis

Die Häufigkeit und weite Verbreitung der Mastitiden verursachen große volkswirtschaftliche Schäden. Der Ausfall an Milch ist beträchtlich. Kühe mit chronisch infiziertem Euter liefern nach *Stableforth* (9) im Durchschnitt 12% weniger Milch als gesunde. Es kommt auch zu einer Verminderung der Milchqualität, wobei aber die Ansprüche der Verbraucher, vor allem in Hinsicht auf gesunde Milch, sich ständig steigern.

Untersuchungen von *Kästli* (16) ergaben, daß 6 - 10 % der Milchkühe in der Schweiz keine normale Milch absondern.

Ein großer Teil der eutererkrankten Tiere kommt vorzeitig zur Schlachtung und wird so der vollen Nutzung entzogen. *Götze* (9) gibt an, daß schätzungsweise der Hundertsatz der in Deutschland wegen Unwirtschaftlichkeit infolge fortgeschrittener Eutererkrankungen jährlich ausgemerzten Tiere bei rund 3-4% liegt. Das sind im Bundesgebiet 200.000-300.000 Tiere jährlich.

Nach *Stableforth* (zitiert nach *Götze* (9)) werden in England 3-4% der Milchkühe wegen Erkrankung und Unwirtschaftlichkeit der Milchdrüse alljährlich getötet. 7-10% der Milchkühe geben eine grobsinnlich veränderte Milch oder weisen Veränderungen der Milchdrüse auf. 20-30% zeigen eine Besiedlung des Euters mit pathogenen Keimen.

Schon 1930 hat *Holford* (*Little and Plastridge* (23)) an 5.000 Kühen festgestellt, daß 4,3% auf Grund von Euterleiden abgeschafft werden mußten. Dieser Prozentsatz wird für die gesamten USA angenommen.

Aus diesen Angaben ist zu entnehmen, welche bedeutenden Verluste der Wirtschaft durch die Eutererkrankungen der Milchkühe entstehen. Trotz angestrebter Bemühungen von allen Seiten ist aber nach *Pollitz* (31) ein Ansteigen der Eutererkrankungen nicht zu verkennen. Er gibt an, daß der gelbe Galt von 1,5% auf 2,5%, die Streptokokkenmastitis sogar von 0,2% auf 6,2%, die Colimastitis von 0,02% auf 0,5% und die Mikrokokken bzw. Staphylokokken des Euters von 0,4% auf 1,4% gestiegen ist.

b) Erreger der Mastitis

Die Mastitis wird in der Regel von einer bakteriellen Infektion ausgelöst. Man unterscheidet eine Reihe von Mastitiserregern, deren Hauptvertreter Streptokokkenarten sind, wie z.B.: Str. uberis, Str. pyogenes animalis, Str. agalactiae und Str. dysgalactiae (P o l l i t z (31)).

95% der infektiösen Mastitiden werden nach L i t t l e und P l a s t r i d - g e (23) durch folgende Erreger verursacht: Str. agalactiae, Staphylokokken, Str. uberis, Str. dysgalactiae, coliforme Bakterien, haemolytische Streptokokken und Corynebacterium pyogenes.

G ö t z e (9) gibt an, daß die Erreger die Milchdrüse mit konstanter Häufigkeit befallen:

Strepto- und Staphylokokken	80%
Bact. pyogenes	10%
Coliforme Bact.	5%
Andere Bakterienarten und nicht bakterielle Mastitiden (Statistik für Norddeutschland)	5%

Eine andere Statistik, die der Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung Schleißheim, ist für Süddeutschland von P o l l i t z (31) ausgearbeitet:

Gelber Galt	25 %
Streptokokkenmastitis	35 %
Mikrokokkenmastitis	3 %
Colimastitis	4 %
Pyogenesmastitis	1,2%

Das ergibt für Deutschland folgenden Durchschnitt:

gelber Galt	80%
Staphylokokken und Pyogenes	6%
Colimastitis	4,5%

S t a b l e f o r t h (G ö t z e (9)) fand in England folgende Häufigkeit der Mastitiserreger durch Untersuchung von 808 Mastitisfällen:

Strepto- und Staphylokokken	85%
Str. agalactiae	44%
Str. dysgalactiae	10%

Str. uberis	4%
Str. zooepidemicus	1%
Staph. pyog. aureus	17%
nicht haemol. Staph.	9%
Bact. pyogenes	9%
Coliforme Erreger	2%
andere Mastitiden	4%

Aus diesen Aufstellungen ist zu ersehen, daß es sich um eine Vielheit der Erreger handelt. Im Vordergrund aber stehen mit 80-85% die Strepto- und Staphylokokkeninfektionen, die den weitverbreiteten gelben Galt im weiteren Sinne verursachen.

In der Schweiz ist nach K ä s t l i (16) der gelbe Galt mit 23% an den Eutererkrankungen beteiligt.

Außer den bereits genannten Erregern, die mit den Euterentzündungen in Zusammenhang stehen, gibt es noch eine Reihe anderer Bakterien, die zwar nicht zu den typischen Mastitisserregern zählen, trotzdem aber akute und chronische Euterentzündungen verursachen. Als solche werden von L i t t l e and P l a s t r i d g e folgende genannt: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella septica*, *Actinomyces necrophorus*, *Salmonella enteritidis* und *Clostridium perfringens*.

Es bleibt noch zu erwähnen, daß in neuerer Zeit durch die Anwendung der Antibiotika und in Gegenden mit systematischer Galtbekämpfung, Mastitisformen in den Vordergrund treten, wie sie bisher in diesem Ausmaß nicht bekannt waren.

So treten heute Mikrokokkenarten und coliforme Erreger als Ursache von Euterentzündungen vermehrt auf. Pilzbesiedlungen und Infektionen mit Keimen, die gegen Antibiotika unempfindlich sind, treten anscheinend durch Verschiebung der bakteriellen Flora bedingt, auf.

K r ü g e r (20) berichtet, daß nach Tilgung der Tuberkulose und des Abortus Bang in den USA und Skandinavien der gelbe Galt das Hauptproblem der Mastitisbekämpfung darstellt. In Beständen, die über Jahre jedoch galtfrei erhalten werden konnten, beginnen Staphylokokken und Colibakterien in verstärktem Maße Mastitiden zu verursachen.

Auch J a q u e t (14) gibt an, daß in Gegenden, in denen die Streptokokkeninfektionen durch therapeutische Erfolge reduziert werden konnten, eine relative

ve Zunahme der Staphylo- und Coliinfektionen der Euter festzustellen ist.

c) Die heute verwendeten Antibiotika und deren Beziehung zur Mastitistherapie

Zur Bekämpfung der Mastitiden sind im Laufe der Zeit die verschiedensten Methoden und Mittel angewendet worden. Bis vor etwa 30 Jahren wurde die Behandlung ohne genauere bakteriologische Diagnose durchgeführt (P o l l i t z (31)).

Zunächst wurden physikalische Methoden angewandt wie z.B. Ausmelkverfahren, Erregung von Stauungshyperämien, Kaltwasserabspritzungen und Eutermassagen mit Salben und Linimenten (P o l l i t z (31)).

Im Jahre 1923 kam, wie G ö t z e (9) berichtet, die Spül- und Infusionstherapie mit den Akridinfarbstoffen Rivanol, Entozon oder Trypaflavin auf. Auch Silberoxydöl und jodiertes Öl wurden als Infusionsmittel gebraucht.

Die Entdeckung der Sulfonamide durch D o m a g k stellte einen bedeutenden Fortschritt in der Mastitistherapie dar. Auch heute noch wird die Supronalemulsion zur intrazisternalen Infusion in vielen Fällen erfolgreich verwendet (G ö t z e (9)).

Nachdem in den Jahren 1944-45 in den USA die Antibiotika Eingang in die Mastitistherapie fanden, werden diese mit den Sulfonamiden heute fast ausschließlich verwendet.

Zur Therapie der Mastitiden werden hauptsächlich Penicillin, Streptomycin, Aureomycin und Terramycin angewendet.

Die Antibiotika kommen in reiner und kombinierter Form zur Anwendung. Zwecks Wirkungssteigerung werden die einzelnen Antibiotika meist miteinander oder mit Sulfonamiden, hier fast ausschließlich Supronal oder dessen Einzelbestandteilen Marbadal und Debenal, kombiniert. Als Vehicel dienen Salben, wäßrige oder ölige Suspensionen.

Die wäßrigen und vor allem die öligen Suspensionen werden in neuester Zeit bevorzugt zur Mastitistherapie verwendet. Damit soll erreicht werden, daß das Vehicel und damit das Therapeuticum durch Diffusion bei wäßriger und Kapillarattraktion bei öliger Suspension tiefer und höher gelegene Teile der Milchdrüse erreicht. Wie S h i p p e r (32) feststellte, zeigen Suspensionen bald nach der Infusion im gesunden und leicht erkrankten Euter eine einheitliche Verteilung im Drüsengewebe, während Präparate auf Salbengrundlage

darin überwiegend nur in den unteren Teilen festzustellen sind. Besonders bei Drüsen mit akuter Mastitis stellte S h i p p e r eine bessere Durchdringungsfähigkeit der Suspension fest.

Die Behandlung wird in der Regel als Instillationstherapie durchgeführt. Bei einer allgemeinen Therapie gelangen nach F l e i s c h m a n n (7) nur Spuren des Präparates über das Blut in das Euter, so daß eine Euterbehandlung in dieser Form zu keinem Erfolg führt. Dagegen berichtet D i e r n - h o f e r (5), daß Penicillin und andere Antibiotika in sehr hohen Dosen verabreicht, z.B. 6 Mill. i.E. Penicillin intramuskulär oder intravenös, in beachtbaren Mengen im Eutersekret ausgeschieden werden. Er zeigt an Hand von Untersuchungen, daß akute Mastitiden über die Blutbahn gut zu beeinflussen sind. Ein Erfolg ist sowohl mit Supronal als auch mit Penicillin, Streptomycin oder den verschiedenen Tetracyclinen zu erzielen, jedoch nur unter Anwendung hoher Dosen.

Vor der Instillation des Präparates müssen die betroffenen Euterviertel gründlich ausgemolken, das Euter gewaschen, die Zitzenöffnung gereinigt und desinfiziert werden. Es ist anzustreben, das Mittel möglichst lange in der Drüse zu belassen und daher das Tier nur alle 12-24 Stunden zu melken. Die Behandlung ist je nach Schwere des Falles und Wahl des Medikamentes nach 24 bis 48 Stunden zu wiederholen und gegebenenfalls bis zur Heilung fortzusetzen. Anschließend ist häufiges und gründliches Ausmelken zu empfehlen.

Wirkungsspektrum der Antibiotika und Sulfonamide
(Modifiziert nach Heilmeyer und Walter (33))

		Sulfon.	Penic.	Strept.	Aureomycin
Gram-negative Bakterien	Escherichia coli	++	-	++	++
	Aerobacter. aerogenes	+	-	++	++
	Brucellen	++	-	++	++
	Pseudomonas pyocianus	+	-	+	+
	Proteus vulgaris	+	-	+	-
	Salmonellen	-	-	+	+
	Bacillus anthracis	+	++	+	++
Gram-positive Bakterien	Clostridien	+	++	+	++
	Corynebacterium	+	++	+	++
Gram-negative Kokken	Neisseria gonorrhoeae	+	++	+	++
	Neisseria meningitidis	++	++	+	++
Gram-positive Kokken	Streptokokkus pyogenes	++	++	+	++
	Streptokokkus pneumoniae	++	++	+	++
	Staphylokokkus aureus und albus	+	++	+	++
Mycobacterien	Mycobacterium tuberculosis	-	-	++	-

Die Wirkung der Antibiotika auf die einzelnen Mastitiserreger ist verschieden. Nach G ö t z e (9) ist Penicillin mit etwa 95-98% sehr wirksam gegen *Str. agalactiae* und befriedigend, d.h. mit etwa 40-60% wirksam gegen *entero-pathogene Staphylokokkenstämme*. Coliforme Mastitiserreger werden nur durch sehr hohe Dosen von 0,5-2 Mill. i.E. Penicillin angegriffen. Das *Bac. pyogenes* ist gegenüber allen bisher bekannten Antibiotika resistent.

Durch *Str. agalactiae* verursachte akute und chronische Euterentzündungen sind auch nach J a h n (12) mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Penicillin zur Heilung zu bringen. Bei Infektionen mit *Str. dysgalactiae*, *Str. pyogenes*, *Str. uberis* und *Staphylokokken* kann die Behandlung versucht werden. Penicillin ist wirkungslos bei Infektionen mit *Escherichia coli*, *Bact. pyogenes* und *Mycob. tuberculosis* sowie anderen penicillinunempfindlichen Erregern.

B a u m g a r t n e r (2) gibt an, daß *Staphylokokken* im allgemeinen penicillinempfindlich sind, doch 5-10% sind resistent. Nach Meinung von K l a t t (17) kann bei *Staphylokokkenmastitis* von keinem Medikament ein voller Erfolg erwartet werden. Mit Penicillin sei ein Behandlungserfolg erst nach 6 Behandlungen in täglichen Abständen möglich.

Der Vollständigkeit halber sei hier das neue Penicillinpräparat Tardomyocel angeführt. Es stellt ein extrem schwerlösliches Penicillinsalz dar (N¹N Dibenzylaethylen Diamin - di - Penicillin). Es kann bei all den Infektionserregern, bei denen auch Penicillin verwendet wird, angewandt werden. Seine entscheidende Verbesserung liegt in der von 3-5 Tagen dauernden Depot-Wirkung (P i l z (30)).

Die Kombination von Penicillin mit Streptomycin fand in letzter Zeit weiteste Verbreitung. Sie wird im Verhältnis 1:1 zur Therapie der Streptokokken-*Staphylokokken*-und Colimastitis angewendet.

Bei der Colimastitis bezeichnet B o d i n (3) Streptomycin als das Mittel der Wahl. K l a t t (17) gibt nach seinen Erfahrungen an, daß *Staphylokokken* dem Streptomycin gegenüber unempfindlich sind.

Die Tetracycline Aureomycin und Terramycin sind gegen grampositive und gegen gramnegative Keime wirksam.

Von allen bisher bekannten antibiotischen Mitteln haben die Tetracycline (Aureomycin, Terramycin, Hostacyclin) das breiteste Wirkungsspektrum in ihrer Wirksamkeit auf die verschiedenen Keime. Doch G ö t z e (9) betont, daß auch diese Gruppe der Antibiotika kein absolut wirksames Therapeutikum darstellt.

Die Empfindlichkeit der Mastitisserreger gegenüber Aureomycin liegt, zitiert nach J a h n (12), für:

Str. agalactiae	bei 0,63	μ /ccm
Str. dysgalactiae	bei 0,63-1,25	μ /ccm
Str. uberis	bei 0,63-1,25	μ /ccm
Str. pyogenes	bei 0,63	μ /ccm
Escher. coli	bei 0,48-1,95	μ /ccm
Corynebacterium pyogenes	bei 1,25	μ /ccm
Staph. aureus	bei 0,16-1,85	μ /ccm

Bei Staphylokokkeninfektionen konnte K l a t t (17) mit Aureomycin in hohen Dosen gute Erfolge erzielen. Terramycin zeigt gegenüber Corynebac. pyogenes ausreichende Wirksamkeit. An Hand von in-vitro-Testen wurde bestimmt, in welchem Maße gewisse Bakterienarten gegen Antibiotika empfindlich sind. Einzelne Stämme weisen dabei gewisse Schwankungen auf. Die Schwankungsbreite bei Corynebac. pyogenes ist relativ begrenzt. Nach 24stündigem Kontakt bei 37°C wurden für Terramycin Hemmwerte von 2,5 μ /ccm und 0,25 μ /ccm Nährmedium festgestellt (M o r s e (27), B u l l i n g (4), E d w a r d s (6)).

Nach den Untersuchungen von O v e r b y (29) hemmen 0,1 μ Terramycin oder 0,02 μ Aureomycin pro ccm Milch das Wachstum von Milchstreptokokken schwach. 1,0 μ Aureomycin oder 2,0 μ Terramycin pro ccm Milch hemmen diese völlig.

Die verschiedenen Arzneimittelfirmen, von denen hier die hauptsächlichsten aufgeführt werden, bringen folgende einschlägige Präparate in den Handel:

Firma Asid:

Vetramycin-Salbe

6 g enthalten: 100.000 i.E. Penicillin-G und
100.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

Firma Dr. Assmann:

Pasimyxin gelb

1 Tube zu 7 g enthält: 150.000 i.E. Penicillin-G und
500.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

Pasimyxin Eutersuspension "forte"

1 Tube zu 7 g enthält: 150.000 i.E. Penicillin G
500.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat
70.000 E. Streptomycin-Sulfat mit antiseptischen

und anaesthesierende Wirkstoffe.

Firma Bayer Leverkusen und Hoechst:

Masticillin Öl "C"

10 ccm enthalten: 100.000 i.E. Procain-Penicillin-G-Kalium
100.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

Masticillin "M" Öl

10 ccm enthalten: 100.000 i.E. Procain-Penicillin-G
1,0 g Marbadal

Masticillin-Salbe

1 Tube zu 5 g enthält: 100.000 i.E. Penicillin-G-Kalium

Masticillin "C"

1 Tube zu 5 g enthält: 100.000 i.E. Penicillin-G-Kalium
0,1 g Dihydrostreptomycin-Sulfat

Masticillin "M"

1 Tube zu 5 g enthält: 100.000 i.E. Penicillin-G-Kalium
1,0 g Marbadal

Tardomyocel-M-Öl, 10 ccm für Injektüle

1 ccm enthält: 10.000 i.E. Dibenzylaethylendiamin-di-Pen-G
0,1 g Marbadal

Tardomyocel "M" Salbe

1 Tube zu 7,5 g enthält: 100.000 Dibenzylaethylendiamin-di-Penicillin-G
1 g Marbadal
ad 7,5 neutrale Salbengrundlage

Eutocillin

1 Flasche mit 10 ccm enthält: 100.000 i.E. Penicillin
100.000 E. Streptomycin

Omnamycin

Suspension von Novocain-Penicillin-G in konz. Omnadin-Lösung enthält:
200.000 i.E. Penicillin-G

Bengen & Co.

Streptopen-forte-Suspension

50 ccm enthalten: 200.000 i.E. Procain-Penicillin-G-krist.
150.000 i.E. Penicillin-G-Natrium-krist.

250.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

5,0 g Aristamid

0,5 g Anaestheticum

Streptopen-Galtsalbe

enthält: 100.000 Penicillin-G.

100.000 Dihydrostreptomycin

Streptopen-Galtöl

enthält: 200.000 Penicillin-G

200.000 Dihydrostreptomycin

Streptocillin-Galtsalbe

enthält: 500.000 Penicillin-G-krist.

500.000 Dihydrostreptomycin-Sulfat

Streptomycin-Galtöl

enthält: 200.000 Penicillin-G-krist.

200.000 Dihydrostreptomycin-Sulfat

Firma Cela, Ingelheim

Terramycin-Suspension (= Calcium-Di-Oxytetracyclin mit Polymyxin-B-Sulfat)

Tube zu 14 g 1 g enthält: 30 mg Terramycin

10.000 i.E. Polymyxin

Cyanamid GmbH.

Aureomycin-Eutersalbe (Aureomycin-Hydrochlorid)

6%ig, 1 Tube zu 7,1 g enthält 426 mg Aureomycin

Aureomycin Suspension

1 ccm enthält 250.000 Aureomycin + 0,15% Tocopherol Konz.

Impfstoffwerke Frisothe

Streptocillin Emulgat

1 ccm enthält: 15.000 Penamon (N-benzyl-beta-Phenylaethylamin-Penicillin-G)

15.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

Euterstreptocillin (in Vetrinole)

4 ccm a 150.000 i.E. Penamin

150.000 E. Streptomycin + 25% Sulfapyrimidin

Chemie Grünenthal:

Supracillin-Galtsalbe

enthält: 200.000 i.E. Penicillin

Supracillin Galtöl

enthält: 400.000 i.E. Penicillin

Supracillin-forte-Suspension

50 ccm enthalten: 200.000 i.E. Procain-Penicillin-G-krist.

50.000 i.E. Penicillin-g-Natrium

250.000 E. Dihydrostreptomycin-Sulfat

5,0 g Aristamind

0,5 g Anaestheticum

Firma Heyl:

Double-mycin-Galtöl (Salbe)

50% Penicillin, 50% Streptomycin

pro Tube 200.000 E.

Öl: 1 ccm enthält 20.000 i.E., 50:50

OWG-Chemie, Kiel:

Eutocillin liquid

ß Penicillin-G + Dihydrostreptomycin

Eutocillin-Salbe

= Penicillin-G + Dihydrostreptomycin + 30% Sulfonamide

Bakt. Institut Renschler & Co., Warthausen:

Penicym "Warthausen"

Antibiotika-Sulfonamid-Suspension mit proteolytischen Fermenten

1 ccm enthält: 10.000 i.E. Penicillin

10.000 E. Streptomycin

0,1 g Dimethylsulfanilamidoisooxazol-Natrium + proteol.
Fermenten.

3. Ausscheidung der zur Euterbehandlung verwendeten Antibiotika in der Milch

Das zu einer Euterbehandlung verwendete Antibiotikum wird eine gewisse Zeit lang mit der Milch ausgeschieden. In der Literatur finden sich über die Ausscheidung und deren Dauer voneinander abweichende Angaben. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Untersuchungsergebnisse von mehreren Faktoren abhängig sind.

Die Ausscheidungsmenge des in die Milchdrüse instillierten Therapeutikums ist abhängig:

- 1) von dem physiologischen Zustand des Euters,
- 2) von dem Laktationszustand, ob Frischmelk, Altmelk oder Laktationsperiode,
- 3) von der Menge und Konzentration des verabreichten Antibiotikums.

Für den Untersuchungsbefund sind maßgeblich:

- 1) die Untersuchungsmethode,
- 2) die verwendeten Testkeime und damit deren Testempfindlichkeit, die unterschiedlich ist und zu verschiedenen Resultaten führt,
- 3) die chemische Zusammensetzung des Antibiotikums
- 4) das Vehicel und
- 5) die Zeit, die verstreicht, bis das Untersuchungsmaterial zur Testung gelangt.

Nach J a h n (12) hängt die Konzentration von Penicillin in der Milch in gewissem Grad vom Stand der Laktation ab. Er gibt an, daß ein gesundes oder nur leicht erkranktes Euter ca. 60-70% des Penicillins wieder ausscheidet; ein schwer erkranktes dagegen nur 30%.

B a u m g a r t n e r (2) schreibt ebenfalls, daß Dauer der Ausscheidung und Konzentration des Antibiotikums von der Milchdrüse abhängig sind. Er mißt auch den individuellen Eigenschaften starken Einfluß zu. Nach seinen Angaben kann man bei trockenstehenden Kühen nach 72 Stunden, bei gut milchenden bis zu 48 Stunden Penicillin im Eutersekret nachweisen.

W e l c h, J e s t e r und B u r t o n (34) geben nach ihren Untersuchungen genaue Ergebnisse für die Ausscheidung von Antibiotika in der Milch an. Danach wird Penicillin 6 Tage, Aureomycin 3 Wochen, Terramycin 3 Tage und Streptomycin 1 Tag lang ausgeschieden. Es wird angegeben, daß jedoch die Hauptmenge der Antibiotika während der ersten Stunden nach der Behandlung ausgeschieden wurde.

Nach mündlicher Mitteilung von F l e i s c h m a n n (7) erfolgt ca. 1/3 der Ausscheidungs menge an Penicillin nach 12 Stunden, nach 24 Stunden ist es nur noch der 20. bis 50. Teil.

In den Lederle Laboratories wurden von K a n e g i s, T o n e l l i und F a l k (15) Untersuchungen über die Aureomycinausscheidung durchgeführt. Zu den Versuchen wurde Aureomycinsalbe, die 400mg Aureomycin cristallin enthielt, verwendet. Es wurden folgende Mittelwerte gefunden:

nach 12 Stunden	125,0 μ /ccm
nach 24 Stunden	50,0 μ /ccm
nach 36 Stunden	11,8 μ /ccm
nach 48 Stunden	3,9 μ /ccm
nach 60 Stunden	1,8 μ /ccm
nach 72 Stunden	0,85 μ /ccm
nach 84 Stunden	0,55 μ /ccm

Zusammenfassend wird berichtet: "Wurden morgens nach dem Ausmelken 400 mg Aureomycin (5%ige Aureomycinsalbe) in das Euter gegeben, so zeigte die Milch mindestens 48 Stunden lang einen hohen Aureomycinspiegel".

B e l l, F l o r a, R e a v e s und H o l d a w a y (1) führten weitere Untersuchungen durch, um die Aureomycinkonzentration in der Milch festzustellen. Das Aureomycin wurde in verschiedenen Mengen intrazisternal verabreicht. Die für den Test ausgewählten Kühe mußten

- 1) alle über 20 Liter Milch pro Tag geben,
- 2) jedes Viertel etwa das gleiche Volumen haben und
- 3) keine augenscheinlichen Anzeichen der Mastitis zeigen, wie: Schwellung, Flocken in der Milch oder abnorme Farbe.

Für Aureomycin HCl wurden folgende Werte ermittelt:

nach 12 Stunden	106,0 μ /ccm
nach 24 Stunden	99,5 μ /ccm
nach 48 Stunden	6,7 μ /ccm
nach 60 Stunden	1,7 μ /ccm

H a w l e y (10) untersuchte den antibiotischen Milchspiegel von Terramycin. Nach Verabreichung von einer Tube Terramycin-Suspension mit 420 mg Terramycin pro Euterviertel wurden nach 24 Stunden in der Milch 25 μ /ccm gefunden. Auch in unbehandelten Nachbarvierteln können Werte auftreten. Es wird noch darauf hingewiesen, daß auch bei intramammärer Infusion ein Blutspiegel von 0,3-0,5 μ

pro ecm nachweisbar ist.

Bei Terramycin wird etwa die Hälfte der verabreichten Dosis in der ausgemolkenen Milch wieder gefunden, die andere Hälfte fällt der Resorption und natürlichen Inaktivierung anheim (H a w l e y (10)).

Nach den Untersuchungsergebnissen von O v e r b y (29) soll die Milch von mit Chloromycetin behandelten Tieren 2 Tage, von Strepto- und Terramycin 3 Tage und Aureomycin 4 Tage nicht abgeliefert werden. Die antibiotische Wirkung wird nach O v e r b y durch Pasteurisierung bei 80° nicht beeinflusst.

4. Nachteile für die Milchverarbeitung durch antibiotikahaltige Milch

Die Ausscheidung der zum Zwecke einer Euterbehandlung in die Milchdrüse eingebrachten Antibiotika in die Milch bringt Schwierigkeiten für die Milchverarbeitung mit sich.

Wird die Milch nur pasteurisiert und gekühlt, so entsteht kein offensichtlicher Nachteil, obwohl die Milch in mehr oder weniger starkem Maße Antibiotika enthält. Deshalb wird von Welch, Jester und Burton (34) das Problem angeschnitten, inwieweit beim Menschen durch den Genuß solcher Milch gesundheitliche Schäden entstehen können. Sie stellen folgende Fragen: "Sind Antibiotika in der Milch auf Grund von täglichem Genuß gesundheitsschädlich? - Vermögen diese Mengen (wie sie in der Milch nach Euterbehandlung vorhanden sind) Menschen, die bis dahin keine Sensibilität zeigten, zu sensibilisieren? - Verursachen sie eine Reaktion bei bereits sensiblen Menschen? - Vermögen sie die normale Mund- bzw. Darmflora zu verändern?"

Diese Fragen sollen lt. Bericht von Welch, Jester und Burton von der Mehrheit der Autoren verneint worden sein. Es wurde aber eine Reaktion bei bereits sensiblen Personen für möglich gehalten.

Offensichtliche Schäden treten durch die antibiotikahaltige Milch bei der Verarbeitung auf.

Nach Maier-Waldburg und Köberlein (26) beruht die Störung in der Verarbeitung der Milch auf mangelhafter Reifung oder Säuerung der Milch oder des Rahms infolge Ausbleibens der normalen Milchsäuregärung. Dafür müssen zum größten Teil Penicillin und andere Antibiotika verantwortlich gemacht werden.

Lange (22) meint, daß alle Antibiotika, je nach Art und vorhandener Konzentration, selbst in großer Verdünnung nicht nur die pathologischen Keime, sondern auch das Wachstum der Milchsäurebakterien beeinträchtigen. Unter Milchsäurebakterien versteht man folgende Bakterienarten, die nach Klimmer-Schönberg (18) in 4 Gruppen unterteilt sind:

- 1) *Microc. casei*, milchsäure- und labbildende Kokken
- 2) *Str. lactis lister*, der übliche Milchsäureerreger
Str. thermophilus (Joghurt)
Str. cremoris (Buttergewinnung)
Str. citrovorus und *paracitrovorus* (Butteraroma)
- 3) Lactobazillen, langstäbchenförmige Milchsäurebakterien (Joghurt)

4) Coli-Aerogenes Bakterien, bilden neben Milchsäure auch Kohlensäure und Wasserstoff (unerwünschte Gärung)

Die Beeinträchtigung besteht darin, daß die Säuerung der Milch oder des Rahmes oder des Käses verlangsamt bzw. ganz unterbunden wird. L a n g e (22) weist darauf hin, daß die Säuerungsstörungen nicht nur allein auf Antibiotika und Sulfonamidpräparate zurückzuführen sind, sondern auch durch Bakteriophagen oder Desinfektionsmittel, wie quarternäre Ammoniumbasen, gelegentlich verursacht werden.

Die Störung in der Milchverarbeitung macht sich vor allem bei der Herstellung von Käse, Butter und Joghurt bemerkbar.

Nach F l e i s c h m a n n (7) unterdrückt oder hemmt das Penicillin die Funktion der Säureweckerbakterien und damit die Milchsäuerung und Aromabildung. In der Käserei können dadurch unerwünschte, vorwiegend gramnegative Bakterien wie Coli-Aerogenes, Fäulniskeime usw. zur Entwicklung kommen. Der Käse wird dumpf, faulig und gebläht. Die normale Reifung des Käses wird gestört. Bei Schimmelkäse wirkt sich die fehlerhafte Reifung auf die Schimmelbildung aus und fremde Schimmelarten kommen zur Entwicklung. Bei Schnittkäse werden 0,2-0,1 i.E./ccm Penicillin für genannte Störung verantwortlich gemacht. Bei Camembert wird bereits durch 0,05 i.E./ ccm ein Qualitätsabfall verursacht. Der Geschmack wird bitter, muffig und faulig.

In der Buttereire wirkt sich die Störung durch Penicillin ähnlich wie beim Käse aus. Die Hemmwirkung tritt im Rahm ebenso wie in der Magermilch auf. Es kommt zu ungenügender Säuerung, die Aromabildung wird unterdrückt und es können sich unerwünschte Bakterien entwickeln. Die allgemein verwendeten Säurewecker bestehen aus einer Mischkultur von Str. lactis, cremoris und aromabildenden Betakokken, deren Penicillinempfindlichkeit verschieden ist. Die Aromabildner werden bereits bei 0,05 i.E. Penicillin/ccm gehemmt. Bei 0,1 i.E./ccm ist bereits ein starker Rückgang der Qualität zu bemerken.

Die Joghurtbakterien sind besonders empfindliche Keime. 0,02-0,01 i.E. Penicillin/ccm hemmen Str. thermophilus, ebenso Thermobac. bulgaricus (F l e i s c h m a n n (7)).

Die nachfolgende Tabelle, ausgearbeitet von der Dänischen Landwirtschaftlichen Hochschule (35), gibt an, in welcher Konzentration das Antibiotikum pro ccm Milch den Beginn der Säuerung hemmt oder diese völlig unterbindet.

Antibioticum	Konzentrat. des Antib. in Mikra/ccm Milch zur Hem- mung beginnender Säuerg.	Konzentrat. zur vollständigen Hemmung
Aureomycin	0,02	1,0
Chloromycetin	0,2	10,0
Streptomycin	0,04	10,0
Terramycin	0,01	2,0

Es wird weiter angegeben, daß Aureomycin nach dem 10. Melken, Streptomycin nach dem 8. Melken noch hemmend wirken.

5. Versuche zur Vermeidung der durch die Ausscheidung der Therapeutika entstehenden Schäden in der Milchverarbeitung

Zur Behebung der schädigenden Einflüsse, die für die Milchverarbeitung durch die Ausscheidung der Antibiotika entstehen, werden von vielen Seiten Vorschläge gemacht.

M a i r - W a l d b u r g (24) schlägt folgende Versuche zur Ausschaltung der durch penicillinhaltige Milch verursachten Schäden vor:

- 1) Aufklärung der bäuerlichen Betriebe mit dem Ziel, Milch von euterbehandelten Kühen zu verfüttern oder nur in kenntlich gemachten Kannen an die Molkerei anzuliefern,
- 2) Verpflichtung der Tierärzte, Euterbehandlungen von Milchkühen mit Antibiotika der Molkerei anzuzeigen.

M u n d i g e r (28) hält es für notwendig, Milch von mit Antibiotika behandelten Tieren erst 5 Tage nach der letzten Euterbehandlung an die Molkerei zu liefern. Bei Verarbeitung der Milch zu Emmentaler Käse sollte nach M a i r - W a l d b u r g (26) die Milch erst nach Ablauf von 8 Tagen abgeliefert werden.

Vom Bayerischen Staatsministerium des Innern wurde folgende gesetzliche Entscheidung über das In-Verkehr-bringen der Milch von Kühen, deren Euter mit einem Antibiotikum behandelt wurden, getroffen:

"Bekanntmachung vom 13.7.1955.

Gemäß § 3 Ziff. 1 Buchstabe g der ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15. Mai 1931 in der derzeit gültigen Fassung ist es verboten, Milch von Kühen, die mit in die Milch übergehenden Arzneimitteln behandelt werden oder vor weniger als 5 Tagen behandelt worden sind, in den Verkehr zu bringen. Diese Bestimmung trifft auch für Milch zu, die von Kühen gewonnen wurde, deren Euter mit einem Antibiotikum, insbesondere Penicillin behandelt wurde, da das in das Euter gebrachte Penicillin in der Hauptsache mit der Milch ausgeschieden wird.

Es ist demnach verboten, die Milch von Kühen, deren Euter mit einem Antibiotikum behandelt wurde, innerhalb von 5 Tagen nach der Behandlung an einen milchverarbeitenden Betrieb anzuliefern oder sonst in den Verkehr zu bringen; der Verwendung als Futtermittel im Erzeugerbetrieb steht nichts

im Wege. Im Interesse der Milcherzeuger selbst ist es zur Vermeidung von Ersatzansprüchen gelegen, sich jeweils bei der Euterbehandlung von Tieren beim behandelnden Tierarzt darüber Auskunft zu erholen, ob die Milch der behandelten Tiere innerhalb von 5 Tagen in den Verkehr gebracht werden darf."

In der dänischen Milchwirtschaft hat man sich nach den Angaben von K u n d - r a t und F o l d a (21) mit einem 2tägigen Ablieferungsverbot zufrieden gegeben. In der Schweiz verbieten die milchgesetzlichen Bestimmungen die Lieferung solcher Milch für die ersten 4 Tage nach der Behandlung.

Schwierigkeiten bereitet zunächst die Tatsache, daß antibiotikahaltige Milch meist nicht gekennzeichnet ist und, wie L a n g e (22) anführt, für die Molkereipraktiker nicht erkennbar ist, da sie sich weder im Geschmack noch im Geruch von normaler Milch unterscheidet. Auch mit den üblichen Schnellproben kann sie nicht erkannt werden. L a n g e macht folgende Vorschläge zur Ausschaltung der durch antibiotikahaltige Milch veranlaßten Produktionsstörungen:

- 1) Fernhalten antibiotikahaltiger Milch aus der Molkerei
- 2) Verdünnung der Milch
- 3) Verwendung höherer Kultursätze der Milchsäurebakterien
- 4) Verwendung von antibiotikaresistenten Kulturen
- 5) Inaktivierung von Penicillin durch Penicillinase.

K u n d r a t und F o l d a (21) diskutierten die Anwendungsmöglichkeit der penicillinzerstörenden Penicillinase. Außerdem weisen sie auf die Möglichkeit hin, daß durch die verschiedenen Erhitzungsverfahren eine teilweise Zerstörung des Penicillins möglich wäre.

M a i r - W a l d b u r g und K ö b e r l e i n (25) schlagen vor, Milchsäurebakterien zu züchten, die gegen Penicillin unempfindlich sind. Chemikalien, die Penicillin zerstören, sind nicht verwendbar, da beim Genuß der Milch gesundheitliche Schäden beim Menschen zu befürchten wären.

Anläßlich einer Euterbehandlung in 200 Beständen stellte H o v m a n d, J e p s o n und O v e r b y (11) fest, daß während der Behandlungsperiode die Milch in den Molkereien wegen des Penicillingehaltes nicht zur Butterei und Käseherstellung verwendet werden konnte. In diesen Fällen wurde zur Inaktivierung des Penicillins Penicillinase verwendet. Auf diese Weise war es möglich, die Milch zur normalen Produktion zu verwenden. In gleicher Richtung gingen erfolgversprechende Versuche mit einem penicillinresistenten Säure-

wecker.

Alle diese Methoden sind für die Praxis in vollem Umfange noch nicht verwendbar und stecken noch im Stadium der Forschung.

Ein verhältnismäßig einfaches Mittel wäre die Verdünnung der Milch. Hierzu werden jedoch ungeheure Mengen einwandfreier Milch benötigt. Unter der Annahme, daß bei einer Galtbehandlung pro Euterviertel 125.000 i.E. Penicillin verabreicht werden, also pro Kuh 500.000 i.E., ergäben sich nach den Angaben von J a h n (12), welcher für den ersten Tag nach der Euterbehandlung mit Penicillin eine Ausscheidungsmenge von ca. 30% in der Milch festgestellt hat, folgende Zahlen: Etwa 160.000 i.E. werden in der Tagesmilchmenge einer Kuh ausgeschieden. Bei einer Tagesleistung von 20 Litern würden bei zweimaligem Melken pro Gemelk ca. 80.000 i.E. in 10 Litern Milch enthalten sein; also 8 i.E. pro ccm. 8.000 Liter antibiotikafreier Milch wären notwendig, um diese 10 Liter penicillinhaltige Milch so zu verdünnen, daß der Penicillingehalt 0,01 i.E./ccm nicht übersteigt.

Verstärkte Impfung mit Säurekulturen führt nicht zum gewünschten Erfolg. Die Hemmungserscheinungen treten auf, ob wenig Kultur, z.B. 1% oder viel, z.B. 10% geimpft werden, vorausgesetzt, daß die Konzentration des Antibiotikum eine gewisse Höhe hat, wie z.B. bei Penicillin 0,1 i.E./ccm. Diese Konzentration ist auch in der Regel mindestens vorhanden.

Es ist gelungen, Säuerungskulturen zu züchten, die gegen bestimmte Antibiotika resistent sind. Mit diesen Kulturen gelingt es, einwandfreie Milchprodukte herzustellen. Für die Praxis ist diese Methode leider nicht durchführbar. Die Beschaffung solcher Kulturen dauert länger, als die Störung in der Molkerei anhält, allgemein 3-6 Tage. Ferner ist es nicht bekannt, um welches Antibiotikum es sich handelt. Ein Vorrätighalten dieser Kulturen ist ebenfalls nicht möglich, da ein ständiges Überimpfen in einem antibiotikahaltigen Milieu von Fachleuten erfolgen muß. Auch kann die Resistenz rasch wieder verloren gehen.

Als erfolgversprechende Methode bleibt jedoch die Aussonderung der antibiotikahaltigen Milch. Zur Durchführung dieser Möglichkeit ist es notwendig, die Antibiotika rasch und einfach nachweisen zu können.

6. Nachweismethoden für Antibiotika in der Milch

Zum Nachweis von Antibiotika in der Milch wurden verschiedene Methoden entwickelt. Für die Testung in Körperflüssigkeiten kommen nach Angabe von J a k s c h (13) nur biologische Tests in Frage. Chemische und physikalische Tests sind nicht zu verwenden, da deren Empfindlichkeit zu gering ist. Die kleinste Menge Penicillin, die man mit der genauesten Methode nachweisen kann, ist 0,1 i.E./ccm.

Die biologischen Untersuchungsmethoden beruhen darauf, daß man Verdünnungen des zu untersuchenden Materials (Antibiotika) in seiner Wirkung auf einen Testorganismus (Bakterien) miteinander vergleicht. Diese Verfahren sind gegenüber den chemischen und physikalischen viel empfindlicher und auch für Penicillin-Gemische und andere Antibiotika geeignet.

F r e y (8) untersuchte verschiedene Testmethoden; einerseits zur Prüfung der Empfindlichkeit der einzelnen Keime, andererseits zur Prüfung der Wirksamkeit. Allen Methoden ist die Hemmung des Wachstums eines empfindlichen Testerregers gemeinsam.

Man unterscheidet 2 Gruppen von Verfahren:

Die Diffusionsmethode und die Reihenverdünnung.

Als Diffusionsmethoden werden von F r e y (8) genannt: Die Rinnen-, Strich- und Lochmethode nach Clauberg. Es handelt sich dabei um Plattenteste, bei denen die auf Antibiotika zu untersuchende Flüssigkeit auf eine mit Staph. aureus beimpfte Agarplatte gebracht wird. Um eine exakte Ablesung möglich zu machen, wird die Testflüssigkeit in Rinnen oder Löcher, die in den Agar geschnitten werden, gegossen. Zur Beurteilung dient die um die Flüssigkeit entstandene Hemmzone.

J a k s c h (13) beschreibt noch ähnliche Diffusionsmethoden nach Heathy, Vincent und Vincent u.a. Er weist darauf hin, daß bei unbekannten Verdünnungen gleichzeitig eine Verdünnung mit einer bekannten Standardlösung ange-
setzt werden muß.

Weitere auf demselben Prinzip beruhende Diffusionsmethoden werden von W a l t e r und H e i l m e y e r (33) angeführt: Die Papierblättchenmethode, der Zylinder und Lochtest. Mit den Diffusionsmethoden können nicht nur Antibiotika, sondern auch Chemotherapeutika und Desinficientia getestet werden.

Die zweite Gruppe der Verfahren umfaßt die der Reihenverdünnungen. Als Beispiel für diese Methode führt F r e y (8) folgende Methoden an: Der Röhrenchentest nach Rammelkamp und Keefer und die Reihenverdünnung nach Rammelkamp und Kolmer. Diese beiden Methoden werden in Reagenzgläsern mit Nährflüssigkeit durchgeführt. Mit der zu testenden Flüssigkeit werden Verdünnungsreihen hergestellt; gleichmäßig beimpft und bebrütet wird das Wachstum des Testerregers in den einzelnen Röhrchen beurteilt.

Die Reihenverdünnungsmethode stellt nach W a l t e r und H e i l m e y e r (33) das zuverlässigste Testverfahren dar. Die Hemmkonzentrationen in vitro können unmittelbar abgelesen werden und erlauben eine quantitative Auswertung. Diese Methode ist für alle Antibiotika anwendbar.

J a k s c h (13) beschreibt die Reihenverdünnung als Dilutionsmethode, bei der das Penicillin in einem flüssigen Nährboden in geometrischer Reihe (oder auch anderem Verhältnis) verdünnt, der Nährboden beimpft und dann bebrütet wird. In den Verdünnungen, in denen das Penicillin in genügender Konzentration vorhanden war, tritt kein Wachstum des Testkeims auf. Auch nach dem Urteil von J a k s c h ist die Dilutionsmethode der Diffusionsmethode an Empfindlichkeit überlegen.

Die Zahl der Modifikationen ist sehr groß. Es werden von J a k s c h verschiedene Methoden angegeben: Die Hämolyse-methode nach Fleming, die Phenolrotmethode nach Fleming und die Bromkresolpurpurmethode nach Reinhart. Diese Verfahren sind alle zur Testung von Antibiotika in der Milch im Molkereibetrieb nicht geeignet. Die Bebrütungszeiten sind zu lange, der Aufwand an Material und Räumlichkeiten groß sowie die technischen Schwierigkeiten beträchtlich.

Die Methode für den Nachweis von Antibiotika in der Milch ist die Reihenverdünnung. Wichtig ist ein geeigneter Testkeim, wie z.B. die Joghurtkultur, eine Kombination von *Thermobac. bulgaricus* und *Str. thermophilus*.

J a k s c h (13) berichtet von der sog. Bulgaricusmethode nach Sanchez und Lamesams. Das Prinzip ist die Reihenverdünnung, das Nährmedium Milch und der Testkeim *Thermobac. bulgaricus*. Dieser Keim bringt innerhalb kurzer Zeit (ca. 2-3 Stunden) durch sein Wachstum die Milch zur Gerinnung.

Durchführung: Die Milch wird entrahmt, 30 Minuten im Wasserbad auf 95° erhitzt und dann abgekühlt. Diese Milch mit einer Kultur des Testkeims beimpft und bei 45° bebrütet. Ist die Milch geronnen, gibt man die gewonnene Kultur in den Kühlschrank; dort ist sie 8 Tage lang haltbar.

Magermilch, nach obigem Verfahren hergestellt, weder beimpft noch bebrütet, wird als Testflüssigkeit verwendet. Die Versuchsreihe besteht aus einer Anzahl von Röhrchen. Jedes Röhrchen wird mit einer gleichen Menge der Testflüssigkeit beschickt; zum 1. Röhrchen das zu untersuchende Material zugesetzt und gemischt. Aus dem 1. Röhrchen wird eine bestimmte Menge entnommen und dem 2. zugesetzt. Dieser Vorgang wird bis zum letzten Reagenzglas fortgesetzt. Anschließend wird jedes Röhrchen gleichmäßig beimpft und die ganze Versuchsreihe bei 45° bebrütet. Das Ergebnis kann nach ca. 3 Stunden abgelesen werden.

In den Röhrchen, in denen das zu untersuchende Material (z.B. Penicillin) in nicht mehr genügend keimhemmender Konzentration vorhanden war, ist die Milch geronnen. Im Zweifelsfall wird nach der Bebrütung Bromkresolpurpur zugesetzt und der Farbumschlag beurteilt.

Es ist nicht notwendig, wie bei anderen Methoden vollständig steril zu arbeiten, da die Bebrütungstemperatur hoch und die Bebrütungszeit kurz ist.

Mit dieser Methode lassen sich Mindestkonzentrationen von 0,3 i.E. Penicillin/ccm Milch noch nachweisen.

Von F l e i s c h m a n n (7) wird eine für den Molkereiegebrauch geeignete Methode beschrieben:

Verdächtige Milch wird mit einem Stamm bestimmter Milchsäurebakterien geimpft. Es wird geprüft, welcher Säuregrad (SH) erreicht wird und ob die Milch gerinnt. Tritt ein beträchtlicher Säuerungsunterschied zwischen dieser Probe und einer Kontrollprobe (aus einwandfreier, ebenso beimpfter Milch) auf, dann ist der Verdacht auf Vorhandensein eines Antibiotikums gegeben. Zur Vermeidung von Fehlgärungen wird die Milch vor der Kontrolle kurz aufgekocht. Dadurch werden auch evtl. penicillinasebildende Coli-Keime abgetötet. Penicillin selbst ist wenig hitzeempfindlich.

Eine amerikanische Nachweismethode von K o s i k o w s k y, H e m i n g s o n und S i l v e r m a n n (19) wird folgendermaßen durchgeführt:

Es werden 10 ccm einer Verdachtsprobe mit 4,5% Säurewecker beimpft. Eine 10%ige Auflösung von Magermilchpulver dient als Kontrolle. Bebrütung 4 Stunden bei 35°. Werden dabei der Kontrolle gegenüber weniger als 80% der Säuerung erreicht, dann besteht Verdacht auf Vorhandensein von Antibiotika.

Wird Säurewecker als Testkeim verwendet, können höchstens 0,2-0,1 i.E. Penicillin in der Milch nachgewiesen werden. Die Käsegerinnung wird jedoch schon

bei 0,02 i.E./ccm in der Milch unterbrochen.

Bei nur kurzer Bebrütung sind die Unterschiede der Säuregrade sehr gering und damit ist die Methode ungenau.

Deshalb suchte Fleischmann (7) eine Untersuchungsmethode, durch die sich zweckmäßigerweise bis zu 0,02 i.E. Penicillin pro ccm Milch in kurzer Zeit und mit einfachen Mitteln nachweisen lassen.

Als Testkeim wurde die Joghurtkultur verwendet. Reagenzgläser wurden mit je 20 ccm Milch, der verschiedene Penicillinkonzentrationen beigelegt waren, gefüllt und dazu 1 ccm Kultur gegeben, kräftig durchgemischt und 2 Stunden bei 42-45° bebrütet. Ebenso wurde mit einer Kontrollprobe, ohne Penicillinbeimengung verfahren. Nach der Bebrütung wurde mit n/10 tel NaOH nach Soxhlet-Henkel titriert.

Bei diesen Versuchen gelang der Nachweis von 0,02 i.E. Penicillin nach 2 Stunden. Die Titration erübrigte sich meist. Gerinnen alle Proben, ist der Versuch negativ verlaufen. Gerinnen nur die Kontrollproben, nicht aber die Verdachtsproben, kann auf das Vorhandensein von Penicillin geschlossen werden.

7. Eigene Untersuchungen

a) Material

Als Testkeim wurde die Joghurtkultur verwendet. Die Joghurtkultur ist das Produkt einer Symbiose zwischen Milchsäurelangstäbchen, dem *Thermobacterium bulgaricum* und dem *Streptokokkus thermophilus*. Im guten Joghurt sollen auf ca. 100 Stäbchen 100-120 Kokken treffen. In der ersten Entwicklung der Kultur überwiegen die Streptokokken, die eindeutig durch die Stäbchen stimuliert werden. Durch das *Thermobac. bulgaricum* soll ein gewisser Eiweißabbau vollzogen werden. Dadurch werden für die Streptokokken Aminosäuren frei, vor allem Valin. Das Temperaturoptimum für *Str. thermophilus* liegt bei 40-42°. Da die Stäbchen säuretoleranter sind, entwickeln sie sich erst im späteren Stadium der Säuerung.

Es wurden Originalkulturen verwendet, d.h. den von der Nordmolkerei Deller, München, hergestellten Joghurt. Die als Nährboden verwendete Milch wurde aus Magermilchpulver bereitet, um immer die gleichen Bedingungen garantiert zu haben. Damit wurden Schwankungen, wie sie bei der Kuhmilch physiologischerweise auftreten, und die damit verbundenen Fehlerquellen vermieden.

10 g Magermilchpulver wurden in 100 ccm Aqua destillata aufgelöst und 30 Minuten bei 100° im Dampfbad sterilisiert.

Folgende Therapeutika kamen zur Untersuchung:

1) Penicillin

Reines Penicillin-G-Natrium der Firma "Hoechst" für Standardisierungszwecke, 1 mg = 1666 E.

2) Aureomycin

Aureomycin hydrochlorid cristallin, 100 mg der Firma "Lederle" zur intravenösen Injektion

3) Streptomycin

Streptomycin-Sulfat der Fa. "Bayer", entsprechend 1 g reiner Base

4) Solu-Supronal

Solu-Supronal der Firma "Bayer", vet. med. Abt.

20%ig, bestehend aus 12,5 Teilen Marbadal und 7,5 Teilen Debenal.

b) Methode

Zweck der Untersuchung war festzustellen, für welche der meist verwendeten Antibiotika und eines Sulfonamids die Testmethode geeignet ist und bis zu welcher Konzentration diese Präparate eine Keimhemmung der Joghurtkultur bewirken. Auch die geeignete Kulturdichte der Joghurtkultur und die Dauer der Bebrütung sollte festgestellt werden.

1) Bereitung des Nährbodens

Wie bereits beschrieben, wurde der Nährboden Magermilch aus Magermilchpulver hergestellt.

Magermilch wurde deshalb verwendet, weil Vollmilch bzw. Vollmilchpulver nach kurzer Zeit aufrahmen und so eine exakte Ablesung des Untersuchungsergebnisses erschweren, da der Unterschied zwischen geronnener und aufgerahmter Milch der Beurteilung Schwierigkeiten entgegensetzt.

2) Züchtung der Kultur

Ein Erlenmeyer-Kolben wurde mit ca. 100 ccm Milch (Nährboden) beschickt, ca. 5 ccm Joghurtkultur zugefügt und in der Milch aufgeschwemmt. Diese Zubereitung wurde 2-2 1/2 Stunden im Brutschrank bei 45° C bebrütet. Nach vollständiger und gleichmäßiger Gerinnung der Milch wird der Kolben mit der so gezüchteten Kultur in den Kühlschrank gegeben.

3) Versuchsreihen

Eine Versuchsreihe besteht aus 7 bzw. 8 Reagenzröhrchen. Der Nährboden Milch wird in geometrischer Reihe mit dem zu untersuchenden Stoff versetzt, d.h.: Das 1. Röhrchen wird mit 0,2 ccm der Ausgangsverdünnung des zu untersuchenden Materials (Antibiotikum bzw. Supronal) beschickt. Dazu kommen 1,8 ccm Nährboden. Im 1. Röhrchen befinden sich nun 2 ccm. Die folgenden 7 bzw. 8 Röhrchen erhalten je 1 ccm Nährboden. Aus dem 1. Röhrchen wird nun, nach sorgfältigem Durchmischen 1 ccm entnommen und in das 2. Röhrchen überpipettiert. Der Inhalt des 2. Röhrchens wieder vermischt, 1 ccm entnommen und in das 3. Röhrchen überpipettiert und so fort bis zum 6. bzw. 7. Röhrchen. Das 7. bzw. 8. Röhrchen dient als Kontrollprobe und wird deshalb nicht mit dem zu untersuchenden Material beschickt.

Anschließend wird mit 0,1 ccm Kultur gleichmäßig die ganze Reihe beimpft.

Im Verlauf der Versuche wurde die Beimpfung mit der Kultur vereinfacht. Als erster Arbeitsgang eines Versuches wurde das gesamte Nährmedium Milch, das

benötigt wurde, mit der Joghurtkultur versetzt (in der gewünschten Konzentration) und die Röhrchen mit der erforderlichen Menge des Gemisches aus Nährmedium und Kultur beschickt. Der Arbeitsgang der Einzelbeimpfung fällt dadurch weg.

Ist eine Versuchsreihe fertiggestellt, erfolgt die Bebrütung bei 45° C (ca. 2 Stunden).

Um die Gerinnungszeit, die bei den einzelnen Versuchen schwankt, festzustellen, richtet man sich nach dem Kontrollröhrchen. Ist dies geronnen, wird der Versuch ausgewertet.

4) Auswertung der Ergebnisse

Die Beurteilung erfolgt nach der Gerinnung. Die Milch gerinnt ab dem Röhrchen, in dem die Konzentration des Antibiotikums keine keimhemmende Wirkung mehr hat. Das Ergebnis war in allen Fällen deutlich abzulesen, so daß keine unterstützenden Maßnahmen getroffen werden mußten.

Die folgenden Ergebnisse wurden aus insgesamt 102 Versuchen gewonnen. Davon befaßten sich 22 Versuche mit Penicillin, 25 mit Aureomycin, 22 mit Streptomycin und 33 mit Supronal.

aa) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Penicillin

In den Versuchen 1-20 wurde die keimhemmende Wirkung von Penicillin-G-Natrium geprüft. Es wurde bei diesen Versuchen mit zwei verschiedenen Verdünnungsreihen getestet:

1. Reihe mit einer Penicillinkonzentration von

1,28 - 0,64 - 0,32 - 0,16 - 0,08 - 0,04 - 0,02 - 0,01

2. Reihe: 1,92 - 0,96 - 0,48 - 0,24 - 0,12 - 0,06 - 0,03 - 0,015

Dadurch kann die Hemmgrenze, vor allem bei den kritischen Werten um 0,02 bis 0,03, exakter festgelegt werden.

Die Versuche 1-20 wurden gleichzeitig zur Bestimmung der günstigsten Kulturdichte verwendet.

Die Kulturdichte von 5 und 10% entsprach in den Ergebnissen den gestellten Anforderungen. In den Molkereibetrieben wird mit einer Kulturdichte von 5% gearbeitet, deshalb wurden auch die eigenen Versuche mit einer 5%igen Kulturdichte weitergeführt.

Ergebnis der Versuche:

Die Wachstums~~hemmung~~ der Joghurtkultur durch Penicillin liegt zwischen 0,04 und 0,02 bzw. zwischen 0,06 und 0,03 i.E./ccm. Die Brutzeit betrug 2-3 Stunden bei einer Temperatur von 45° C.

Tabelle I: Penicillin

Lfd. Nr.	Kultur-dichte	Verdünnungsreihe									Kon-trolle	Bebrütungs-zeit
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		Reihe I
		1,28	0,64	0,32	0,16	0,08	0,04	0,02	0,01	K		
1	2 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+		4 Std.
2	3 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+		4 Std.
3	4 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+		4 Std.
4	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 30 Min.
5	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 30 Min.
6	10 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+		3 Std.
7	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		3 Std. 15 Min.
8	10 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 50 Min.
9	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 50 Min.
10	10 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 10 Min.
11	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+		2 Std.
12	5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+		2 Std.
13	5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+		2 Std.
		1,92	0,96	0,48	0,24	0,12	0,06	0,03	0,015	K		Reihe II
14	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+		2 Std. 50 Min.
15	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 50 Min.
16	10 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		3 Std.
17	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+		4 Std. 15 Min.
18	5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+		3 Std.
19	5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+		3 Std.
20	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std.

+ = Gerinnung

- = keine Gerinnung

bb) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Aureomycin

Die Versuche 21-43 befaßten sich mit der keimhemmenden Wirkung von Aureomycin und ebenfalls mit der Bestimmung der Kulturdichte.

Die Antibiotika der Tetracyclingruppe sind in sauberem Milieu weitgehend stabil. Im alkalischen Bereich wird Aureomycin rasch inaktiviert (W a l - t e r und H e i l m e y e r).

Bei diesen Versuchen wurde mit der Verdünnungsreihe 1 (1,28-0,01) gearbeitet. Die 5%ige Kulturdichte erwies sich auch bei Aureomycin als günstig.

Ergebnis der Versuche:

Die Wachstumshemmung der Joghurtkultur durch Aureomycin liegt zwischen 0,08 und 0,04 μ g Aureomycin/ccm.

Die Brutzeit betrug 2-3 Stunden bei einer Temperatur von 45° C.

Tabelle II: Aureomycin

Lfd. Nr.	Kultur-dichte	Verdünnungsreihe								Kon-trolle	Bebrütungs-zeit
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	45° C
		1,28	0,64	0,32	0,16	0,08	0,04	0,02	0,01	K	
21	1 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
22	2 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+	3 Std.
23	3 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.
24	4 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.
25	5 %	-	-	-	+	+	+	+	+	+	3 Std.
26	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.
27	1 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
28	2 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
29	3 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+	3 Std.
30	4 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+	3 Std.
31	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+	3 Std.
32	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.
33	4 %	-	-	-	-	-	-	-	+	+	3 Std.10 Min.
34	4 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.10 Min.
35	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.10 Min.
36	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.10 Min.
37	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.10 Min.
38	6 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.10 Min.
39	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.10 Min.
40	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.10 Min.
41	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.10 Min.
42	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.10 Min.
43	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.10 Min.

cc) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Streptomycin

Die Versuche 75-92 umfassen die Testung von Streptomycin. Wesentlich für das Ergebnis der angestellten Versuche ist die Tatsache, daß das Wirkungsoptimum von Streptomycin bei einem pH von 7,5-9,0 liegt. Unter einem pH von 7,5 kommt es zu einem starken Absinken der Wirksamkeit. Da der verwendete Nährboden Magermilch einen pH von 6,2-6,8 aufwies, dürfte dies die Erklärung für die Hemmung, die erst bei sehr hoher Konzentration eintrat, sein. Der pH frisch ermilchener Milch hat einen pH-Wert von 6,6.

Es kam wieder die Verdünnungsreihe 1 (1,28-0,01) zur Anwendung.

Da bei einer Konzentration von 1,28 keine Hemmung festzustellen war, wurde die Konzentration von Streptomycin verzehnfacht. Daraus ergibt sich die Verdünnungsreihe: 12,8-0,1.

Ergebnis der Versuche:

Die Wachstumshemmung der Joghurtkultur durch Streptomycin liegt zwischen 6,4 und 3,2 Streptomycin/ccm.

Die Brutzeit betrug knapp 2 Stunden bei einer Temperatur von 45° C.

dd) Bestimmung der Wachstumshemmung von Joghurtkultur durch Supronal

Die Versuche 44-74 prüften die Hemmwirkung durch Supronal. Supronal wurde ebenfalls zu den Versuchen herangezogen, wenn auch die Sulfonamide seit Einführung der Antibiotika eine Einschränkung und Abgrenzung ihres Indikationsbereiches erfahren haben. Jedoch behaupten sie auch heute noch in der Therapie bakterieller Infektionen und so auch in der Behandlung von Euterkrankungen ein bestimmtes Feld.

Die Verdünnungsreihe reichte von 10-0,15 mg Supronal/ccm. Die Versuche mit Supronal unterlagen dabei auch der Prüfung auf die geeignete Kulturdichte. Die 5%ige Kulturdichte erwies sich auch hier als gut geeignet.

Ergebnis der Versuche:

Die Wachstumshemmung der Joghurtkultur durch Supronal liegt zwischen 0,62 und 0,31 mg Supronal/ccm. Die Brutzeit betrug ca. 2 Stunden bei einer Temperatur von 45^o C.

Tabelle IV: Supronal

Lfd. Nr.	Kultur- dichte	Verdünnungsreihe							Kon- trolle	Bebrütungs- zeit
		1	2	3	4	5	6	7		
		10	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,15		
									K	
62	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.15 Min.
63	10 %	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.15 Min.
64	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.15 Min.
65	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	3 Std.
66	2,5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
67	2,5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
68	10 %	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.
69	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.
70	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	3 Std.
71	2,5 %	-	-	-	-	-	-	-	+	3 Std.
72	10 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.
73	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.15 Min.
74	2,5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	10 Std.
75	10 %	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.30 Min.
76	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
77	2,5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	10 Std.
78	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
79	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
80	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.
81	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	3 Std.
82	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
83	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
84	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
85	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.30 Min.
86	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.
87	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.
88	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.15 Min.
89	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.
90	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.
91	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	2 Std.
92	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	2 Std.

Tabelle V

Antibiotik.	Lfd. Nr.	Kult. dichte	Verdünnungsreihe									Kontrollle	Bebrütungszeit
			1	2	3	4	5	6	7	8	9		
			1,28	0,64	0,32	0,16	0,08	0,04	0,02	0,01	K		
Penicillin	93	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std. 20 Min.
	94	5 %	-	-	-	-	-	-	+	+	+		2 Std.
Aureomycin	95	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+		2 Std.
	96	5 %	-	-	-	-	+	+	+	+	+		2 Std.
			10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,155	0,077	K		
Supronal	97	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+		2 Std.
	98	5 %	-	-	-	-	-	+	+	+	+		2 Std.
			1,28	0,64	0,32	0,16	0,08	0,04	0,02	0,01	K		
Streptomycin	99	5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+		2 Std.
	100	5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+		2 Std.
			12,8	6,4	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	0,1	K		
	101	5 %	-	-	+	+	+	+	+	+	+		2 Std.
	102	5 %	-	-	+	+	+	+	+	+	+		2 Std. 15 Min.

Die Tabelle V (Versuchsreihen 93-102) wurde als Kontrolle zu den vorhergehenden Versuchen durchgeführt. Dabei kamen Penicillin, Aureomycin, Streptomycin und Supronal gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen zur Untersuchung.

8. Diskussion

Die Joghurtbakterien sind besonders antibiotikaempfindliche Keime.

F l e i s c h m a n n (7) gibt 0,02 i.E. Penicillin/ccm Milch für die Hemmung von *Str. thermophilus* und *Thermobac. bulgaricus* an, was durch eigene Versuche bestätigt wurde. Diese geringe Konzentration, die in der Buttereirei und Käseerei keinen Schaden mehr anzurichten vermag, führt bei der Joghurtherstellung noch zu beträchtlichen Störungen. F l e i s c h m a n n gibt für die Wachstumshemmung verschiedener Milchsäurebakterien folgende Penicillinkonzentrationen an:

<i>Str. lactis</i>	bei 0,5	i.E./ccm Milch
<i>Str. cremoris</i>	bei 0,2-0,05	i.E./ccm Milch
Säurewecker	bei 0,5-0,1	i.E./ccm Milch

Da also die Joghurtkultur gegen die Anwesenheit von Antibiotika den empfindlichsten Indikator darstellt, kann Milch, die das Wachstum der Joghurtkultur nicht hemmt, als frei von Antibiotika betrachtet und zur Herstellung von Milchprodukten verwendet werden. Für die Molkerei ist eine rasche und einfache Methode, antibiotikahaltige Milch zu erkennen und auszuscheiden, wünschenswert.

Die vorliegende Methodik ermöglicht bereits nach 2 1/2 - 3 Stunden Gesamt-arbeitszeit, zur Erkennung antibiotikaverdächtiger Milch einen guten Anhaltspunkt zu liefern.

Eine Austestung von Combinationspräparaten, wie sie in der Mastitisbehandlung allgemein üblich sind, erübrigt sich, da, wie eingangs erwähnt, es lediglich darauf ankommt festzustellen, ob eine Milch soviel Antibiotika enthält, daß die in dem Molkereibetrieb üblichen Säuerungsverfahren nicht durchgeführt werden können.

9. Zusammenfassung

Zum Schnellnachweis von Mastitistherapeutika (Sulfonamide und Antibiotika) in der Milch eignet sich als Testmedium die Joghurtkultur. Das Wachstum dieser Kultur in der Milch wird deutlich gehemmt durch:

- 1) Penicillin in einer Konzentration von 0,02 i.E./ccm
- 2) Aureomycin in einer Konzentration von 0,04 μ /ccm
- 3) Streptomycin in einer Konzentration von 3,2 μ /ccm
- 4) Supronal in einer Konzentration von 0,31 mg/ccm

Die Brutzeit beträgt im Mittel 2 Stunden bei einer Bebrütungstemperatur von 45 °C.

Literaturverzeichnis

- 1) Bell, W.B., Flora, C.C., Reaves, P.M., Holdaway, C.W.: Aureomycinkonzentration in der Milch nach intramamm. Infusion. Virginia Polytechnic Institute, Agricult. Experiment Station, Blackburg, 1949
- 2) Baumgartner, H.: Die Penicillinbehandlung des Euters
Mh. f. Vet. Med. 3, 70, 1948
- 3) Bodin, L.: Die Behandlung der Colimastitis mit Streptomycin. Ref. Die Vet. Med. 4, 169, 1951
- 4) Bulling, E.: Über die Wirkung einiger Antibiotika auf Corynebact. pyogenes
BMTW 67, 381, 1954
- 5) Diernhofer, K. und Scharfen, E.: Epithel und andere Gewebsschranken in der Chemotherapie
W.T.M. 1. Teil 42, 775, 1955
2. Teil 43, 13, 1956
- 6) Edwards, S.J.: A rational Basis for the Application of Antibiotics in Therapie
Proc. 15. Intern. Tierärztl. Kongreß, Stockholm, Part 1, Vol. 2, 1103, 1953
- 7) Fleischmann, K.: Läßt sich Penicillin in der Milch nachweisen?
Deut. Mol. Zeitg. 75, 534, 1954
- 8) Frey, I.: Über die Resorption des Novocillin bei den großen und kleinen Haustieren
Vet. Med. Diss. München 1952
- 9) Götze, R.: Zur Bekämpfung der Euterentzündung des Rindes
DTW, 58, 198, 1951
- 10) Hawley, G.E.: Oxytetracycline in Mastitis.
Antibiotics Annual, 329, 1954/55
Medical Encyclop. Inc. New York

- 11) Hovmand, H.V., Jepson, A., Overby, A.J.: 2 Jahre einer kollekt. Mastitis-
bekämpfung in zwei Molkereien mit praktischer
Kontrolle der durch Penicillin hervorgerufenen
Säuerungsfehler bei der Anwendung von Penicilli-
nase oder penicillinresistenten Säureweckern.
Ref. Die Vet. Med. 8, 35, 1955
- 12) Jahn, W.: Penicillin und andere Antibiotika in der Vete-
rinärmedizin
Terra Verlag Konstanz 1952
- 13) Jaksch, W.: Über die Technik der biologischen Blutspiegel-
bestimmung bei den Haustieren
Vet. Med. Diss. Wien 1951
- 14) Jaquet, J.: Die Behandlung der Zitzeninfektion beim Rinde
mit Antibiotika und deren Folgen
Ref. Die Vet. Med. 7, 506, 1954
- 15) Kanegis, L.A., Tonelli, G., Falk, H.: Aureomycinmilch und Serumkonzentra-
tionen bei Milchkühen
Ref. Die Vet. Med. 5, 125, 1953
- 16) Kästli, P.: Der Euterkatarrh.
Landw. Journ. Schweiz, 57, 366, 1943
- 17) Klatt, Ch.: Über die Wirkung von Sulfonamidpräparaten und
Antibiotika auf Mastitisstaphylokokken
Ref. Die Vet. Med. 7, 184, 1954
Nord. Vet. Med. 5, 925, 1953
- 18) Klimmer, M., Schönberg, F.: Milchkunde
Berlin 1947, R. Schoetz
- 19) Kosikowsky, F.V., Hemingson, R.W., Silvermann, G.J.: Das Vorkommen von
Antibiotika, Sulfonamiden und quartern. Ammo-
niumverbindungen in der Milch im Staate Nw York.
J. Dairy. Sc. 6, 1952
- 20) Krüger, W.: Zur Epidemiologie des Gelben Galt
BMTW 66, 253, 1953
- 21) Kundrat, W., Folda, W.: Produktionsstörungen in der Molkerei durch
penicillinhaltige Milch
Arbeiten und Berichte d. Südd. Versuchs- und
Forschungsanst. Weißenstephan, 1, 327, 1950

- 22) Lange, W.: Antibiotika in der Milchwirtschaft
DMZ., 76, 1417, 1955
- 23) Little, R., Plastringe, W.N.: Bovine Mastitis
Mc. Graw-Hill Book Comp. New York u. London 1946
- 24) Mair-Walzburg, H.: Fortschritte, doch nicht ohne Sorgen
Ref. Die Vet. Med. 8, 285, 1955
- 25) Mair-Walzburg, H., Köberlein, W.: Penicillinnachweis im praktischen Betrieb. DMZ, 74, 1083, 1953
Ref. Die Vet. Med. 45, 315, 1950
- 26) Mair-Walzburg, H., Köberlein, W.: Kann man penicillinhaltige Milch wieder butter- und käsetauglich machen?
DMZ., 74, 241, 1953
- 27) Morse, E.V.: Die Reaktion des Rindes auf Penicillinpräparate bei intramuskulärer Einspritzung
- 28) Mundinger, E.: Antibiotika und Milchwirtschaft
DMZ., 73, 29, 1952
- 29) Overby, A.J.: Die Wirkung verschiedener Antibiotika in der Milch nach intramammärer Infusion
Ref. Die Vet. Med. 6, 117, 1953
- 30) Pilz, W., Kaufmann, W.: Tardomyocel, ein neues Depot-Penicillin-Präparat
Vet. Med. Nachr. 91, 1956
- 31) Pollitz, Hans: Der Aufbau und die Erfolge einer tierärztlichen Überwachung der Milchkühe in einer Gemeinde eines schwäbischen Molkereieinzugsgebietes
Vet. Med. Diss. München 1954
- 32) Shipper, I.A.: Comparison of Vehicles in Intramammary Therapy of Bovine Mastitis
Ref. Die Vet. Med. 5, 111, 1955
- 33) Walter, A.M., Heilmeier, L.: Antibiotika-Fibel. Indikation und Anwendung der Chemotherapeutika und Antibiotika
Gg. Thieme, Stuttgart 1954
- 34) Welch, H., Jester, W., Burton, I.M.: Antibiotics in Fluid Milk.
Antibiotics and Chemotherapy, 571, 1955

35) ohne Verfasser:

Die Wirkung verschiedener Antibiotika in der
Milch

Melkeritiden 45/52, Bl. 16

MKZ, 4, 653, 1953

Für die Überlassung des Themas, die Anteilnahme an meiner Arbeit und für die wohlwollende Unterstützung, erlaube ich mir, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Walter B a i e r besonderen Dank zu sagen.

Lebenslauf

Am 18. Juli 1929 wurde ich, Doris Kohz, geb. Bennett, als Tochter des Dipl. Ing. Dr. Paul Bennett und seiner Ehefrau Germaine, geb. Lallemand, in München geboren. Nach 4 Jahren Besuch der Volksschule in München trat ich 1940 in das Max-Joseph-Stift, München, ein. In den Jahren 1945-48 besuchte ich die Oberrealschule München-West, von welcher ich im Sommer 1948 das Reifezeugnis erhielt.

Seit dem Sommer 1950 studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München und beendete dort am 18. Dezember 1954 das tierärztliche Staatsexamen.

Von Januar 1955 bis Juli 1956 war ich zunächst als Veterinärpraktikantin und später als Volontär-Assistentin an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik tätig.

CHAPTER I

THE first object of this work is to show that the
principles of the human mind are not innate
but are derived from experience. It is to be
shown that the mind is a blank slate at birth
and that all knowledge is acquired from the
senses. The second object is to show that the
principles of the human mind are not innate
but are derived from experience. It is to be
shown that the mind is a blank slate at birth
and that all knowledge is acquired from the
senses. The third object is to show that the
principles of the human mind are not innate
but are derived from experience. It is to be
shown that the mind is a blank slate at birth
and that all knowledge is acquired from the
senses.

